

## NÖVÉNYI SZEREK HELYE A MAI GYÓGYSZERKINCSEBEN

Gyógyszerészet 60. 175-177. 2016.

### *Euphorbia peplus* – ingenol mebutát

Vasas Andrea



Az Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerfelügyeleti Hatóság (FDA) 2012 januárjában, míg az Európai Gyógyszerügyi Hivatal (EMA) 2012 novemberében engedélyezte az ingenol mebutát (Picato®) használatát egy bőrrákot megelőző állapot, az aktinikus keratózis kezelésére. Ez a betegség egy olyan bőrelváltozás, amely hosszan tartó, túlzott mértékű napsugárzás hatására alakul ki. A készítmény hatalmas előnye, hogy 2-3 napos, egyszerű, fájdalommentes kezeléssel elkerülhető a műtéti beavatkozás. Érdekesség, hogy ezt a vegyületet elsőként a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerésztudományi Karának kutatói, *prof. Hohmann Judit* és munkatársai mutatták ki a vézna kutyatejből (*Euphorbia peplus*), és különös jelentősége, hogy szerkezetmódosítás nélkül vált gyógyszerhatóanyaggá.

#### Növénytől a gyógyszerig

Az *Euphorbia* genus a kutyatejfélek (Euphorbiaceae) családjának egyik legnagyobb nemzetsége, a fajokra erősen irritáló hatású tejnedv előfordulása jellemző, számos fajt használnak a népi gyógyászatban tumorok kezelésére, szemölcsök eltávolítására. A család fajai érdekes biológiai aktivitással rendelkező anyagokat tartalmaznak. E vegyületek közül kiemelkedő jelentőséggel bírnak a diterpének, amelyek biokémiai és farmakológiai kutatások fontos eszközei, számos képviselőjüket alkalmazzák gyógyszerek hatásmechanizmusának tanulmányozására. Korábban a forboidok (ingenán, tiglián és dafnán diterpénészterek) képviselték az egyik legjelentősebb csoportot. Később terápiás szempontból fontos antileukémiás hatású ingenánvázis diterpéneket is izoláltak, pl. az *Euphorbia esulából*, valamint egy ultrapotens kapszaicin analóg hatású vegyületet, a reziniferatoxint az *E. resiniferából*. Az *Euphorbia* fajokból nyert diterpének nagy szerkezeti változatosságot mutatnak, és számos közülük jelentős biológiai aktivitással (citotoxikus, antibakteriális, antiproliferatív és MDR-csökkentő hatás) rendelkezik, amely további kutatások szempontjából ígéretes [1].

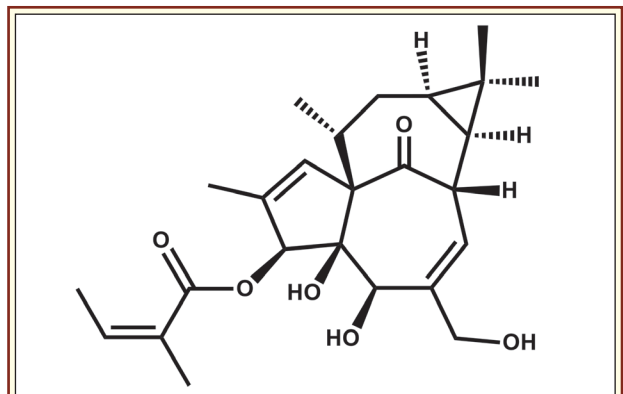
Az *Euphorbia peplus* (tarló kutyatej, vézna kutyatej) (**1. ábra**) az Euphorbiaceae család egyik legirritálóbb fajaként ismert, a világ számos területén (Európa, Észak-Amerika, Ausztrália) előforduló, 5-30 cm magas, egyéves növény. Jelenleg az ausztráliai Queensland az egyedüli hely a Földön, ahol a növényt keres-



**1. ábra:** Az *Euphorbia peplus*

(forrás: <https://www.flickr.com/photos/starr-environmental/21776702093/>)

kedelmi céllal (az ingenol mebutát [**2. ábra**] előállítására) termesztik (**3. ábra**) [2]. A helyi és a New South Walesben élő farmerek a növényi nyersanyagot kizárólag a Leo Pharmának értékesítik, így biztosítva a gyógyszeralapanyagot.



**2. ábra:** Az *Euphorbia peplus* hatóanyaga az ingenol-3-angelát (ingenol mebutát)



3. ábra: Az *Euphorbia peplus* termesztése [2]

Az eddig végzett számos fitokémiai vizsgálat során irritáló hatású ingenánszarmazékokat („Pe1–Pe5”, és ingenol-20-*O*-oktanoát), jatrofán és pepluánvázas diterpéneket azonosítottak. A mára gyógyszerre vált ingenol 3-angelátot (ingenol mebutát) az SZTE Farmakognóziái Intézetében *prof. Hohmann Judit* és munkatársai izolálták először a növényből [3]. A vegyület azonban nem csak ebben a fajban található meg, azonosították már az *E. antiquorum*ból, *E. helioscopi*ából, *E. paralias*ból, *E. drummondii*ből és az *E. hirt*ából is.

### Farmakológiai vizsgálatok

A vézna kutyatej népi gyógyászati alkalmazása hosszú múltra tekint vissza, a növény tejnedvét enyhébb bőrgyógyászati panaszok (pl. szemölcs és tyúkszem) mellett bazálsejtes karcinoma és aktinikus keratózis (AK) kezelésére alkalmazták. Az ausztráliai Queensland Institute for Medical Research 200 Euphorbiaceae családba tartozó fajjal végzett farmakológiai vizsgálata azt mutatta, hogy közülük csak a vézna kutyatej rendelkezik tumorelles hatással *in vitro* és *in vivo*. Megállapították, hogy az *E. peplus* nyers kivonata számos tumoros sejtvonalon, köztük a hagyományos szerekre rezisztens rosszindulatú melanoma esetén is hatásos volt *in vitro*. Az ingenol mebutát bőr eredetű tumorokban történő tesztelése szintén Ausztráliában kezdődött 2004-ben. Állatkísérletekben a vegyület erős citotoxikus hatást mutatott számos bőr eredetű tumor esetén. A hatás a gyors mitokondrium károsodás és nekrozis miatt kialakuló sejthalál következtében jön létre, míg az egészséges sejtek az anyagra kevésbé voltak érzékenyek. A vegyület a PKC enzimrendszeren keresztül fejti ki hatását, gátolja a PKC $\alpha$  és serkenti a PKC $\delta$  transzlokációt a citoplazmában és a sejtmembránban (leukémiás és vastagbél tumoros sejtvonalakon), illetve apoptózist indukál az AKT jelátviteli út gátlásával. Az ingenol mebutát egyedülálló, bifázisos módon indukálja az IL-6 elválasztást, továbbá serkenti az IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  és a neutrofil kemotaktikus citokin, az IL-8 termelést normál és tumoros

(egér bőrkarcinoma, human keratinocita, fibroblaszt és melanoma) sejtek esetén. Az antitumor hatásban a neutrofil granulocitáknak is nagyon fontos szerepe van, mégpedig az ingenol mebutát kezelést követő relapszus megakadályozása szempontjából, ugyanis képesek a reziduális tumorsejtek elpusztítására. A neutrofilek aktiválásában szerepet játszanak a vegyület által indukált gyulladáshoz vezető mediátorok és maga az anyag is rendelkezik direkt aktiváló hatással [4].

A szubkután alkalmazás során megállapították, hogy a vegyület miután belép a bőrszövetbe, a P-glikoprotein szubsztrátjaként transzverzálisan jut be azon keresztül és éri el a szubepidermális és szubkután környezetet, majd elpusztítja a tumor vaszkularizációt. 2011-ben fedezték fel, hogy az ingenol mebutát kettős mechanizmus (gyors nekrozist követő specifikus, neutrofil-mediálta, antitestfüggő celluláris citotoxicitás) révén fejti ki hatását. Használatának jelentős előnye, hogy a vegyület alkalmazását követő AK léziók gyors szétesése miatt a kezelés mindössze 2-3 napot vesz igénybe. Később azonban azt is megállapították, hogy a kezelést számos kemokin felszabadulása követi, melyek pro-inflammatórikus hatása növelheti az esetleges szisztémás alkalmazás toxicitásának rizikóját [4]. Az *in vitro* vizsgálatok eredményei azt mutatták, hogy a vegyület nem befolyásolja a humán citokrom P450 izoenzimeket.

2004-óta számos preklinikai és klinikai vizsgálatot végeztek az ingenol 3-angeláttal. Ezek során meghatározták az alkalmazható dózisokat, a kezelés lehetséges helyeit (arc, fejbőr, kar, mellkas és kézfej) és a kezelés optimális időtartamát, valamint a mellékhatásokat. Megállapították, hogy a kezelés alacsony toxicitással jár és jól tolerálható. Mivel a kezelés más terápiákkal összehasonlítva rövid időt vesz igénybe, ezért a betegek is együttműködőbbek. Az általános mellékhatások, pl. pirosság, irritáció és égő érzés 2-4 héten belül elmúlnak és a kezelés folytatási rátája is magasnak bizonyult.

### A gyógyszerre válás folyamata

A vegyület felfedezése a terápia számára *Jim Aylward* nevéhez fűződik, akinek ötletére 1998-ban, Ausztráliában megalapították a Peplin nevű céget. Aylward korábban a queenslandi egyetem kutatóintézetében vizsgálta Euphorbiaceae fajok komponenseinek rákellenes hatását. Különösen annak a megfigyelésnek a háttere érdekelt, hogy az *E. peplus* tejnedvét előszeretettel alkalmazták a helyi lakosok bőrrák kezelésére. A korai kutatásokat magánalapítvány és állami támogatás segítségével

vel biztosították. 2004 júniusában kértek engedélyt a vegyület kipróbálására az FDA-tól aktinikus keratózis és bazálsejtes karcinoma terápiájára. 2005-ben már megkezdődtek a fázis II. vizsgálatok, majd a biztató eredmények hatására a befektetők 40 millió dolláros tőkeemeléssel támogatták a cég kutatásait. 2007-ben a Peplin áttette székhelyét az Egyesült Államokbeli Delaware-be, ahol ezt követően 2008-ban megkezdték a fázis III. vizsgálatokat. 2009-ben a céget megvette a dán Leo Pharma, ahol a további gyógyszerfejlesztéseket végezték, végül a szert Picato® néven 2012 januárjában törzskönyvezték az Egyesült Államokban. A gyógyszerre fejlesztés tehát kb. 15 évig tartott.

### *Az ingenol mebutát előállítása*

A növényt nagy területeken termesztik Ausztráliában és izolálással állítják elő belőle az ingenol mebutátot. Az *E. peplus* gyorsan fejlődik (12-14 hét a tenyészidő) és a begyűjtés során a nagy területű mezőgazdasági termeléshez elegendő magot is szolgáltat. A fejlesztési munkák során gyors és egyszerű extrakciós módszert dolgoztak ki friss illetve szárított növény feldolgozására egyaránt. Ezen kívül a gyártási tételek gyorsan és olcsón ellenőrizhetők *in vitro* bioassay és tömegspektroszkópia alkalmazásával. Mivel azonban az ígéretes farmakológiai eredmények alapján már látszott, hogy a vegyület csupán extrakciós módszerrel történő előállítása nem lesz elegendő, megkezdődtek a szintetikus, félszintetikus munkák is. Az Euphorbiaceae diterpének szintetikus előállítására már régóta folynak törekvések, azonban az aszimmetrikus szénatomok nagy száma miatt ilyen módon történő előállításuk nehézkes és egyelőre nem gazdaságos. Az alapvegyület ingenol egy természetes anyag, amely könnyen kinyerhető az *E. lathyris* magjából és kereskedelmi forgalomban is elérhető. Korábban ezt a vegyületet alkalmazták kiindulási vegyületként az ingenol 3-észterek és származékaik félszintetikus előállítására. Az ingenol 3-angelát félszintézisét 2011-ben dolgozták ki [4]. Jelenleg a vegyület már kereskedelmi forgalomban is elérhető (Sigma-Aldrich).

### *A készítmény alkalmazása*

A kezelést aktinikus keratózis esetén naponta egyszer, 2-3 napon át kell végezni. A készítmény két különböző erősségben érhető el: az arc és a fejbőr kezelésére 0,015%-os koncentrációban alkalmazzák naponta egy-

szer, három egymást követő napon; a test kezelésére szolgáló gél 0,05%-os koncentrációjú és naponta egyszer, két egymást követő napon kell használni.

### *Összefoglalás*

Az *Euphorbia* fajokat a bennük található diterpén típusú vegyületek nagy kémiai változékonysága (alapváz, szubsztituensek, sztereokémia) jellemzi. Az ingenol mebutátot először az *E. paralias*ból írták le 1980-ban, az *E. peplus*ból pedig 2000-ben azonosították, így viszonylag „öreg” molekula volt, mikor megkezdődtek vele a preklinikai vizsgálatok. Ez azt igazolja, hogy a már ismert vegyületek újra felfedezése és farmakológiai vizsgálata nagyon értékes vezérmolekulák és új biológiai célpontok felismeréséhez vezethet.

Érdekes, hogy a 90-es évekig az ingenán, dafnán és tiglián észtereket elsősorban toxikus, tumorkeltő anyagokként, és mint nagyon erős környezeti karcinogéneket tartották számon, amelyek nem értékesek a gyógyszerfejlesztés számára. A 2000-es évektől kezdődően azonban a PKC izoenzimiek sejten belüli jelátviteli útjainak és a különböző sejtes válaszok szabályozásában betöltött szerepének felismerésével és kiterjedt tanulmányozásával új utak nyíltak a preklinikai és klinikai vizsgálatok előtt. Az ingenol mebutát alkalmazása több rosszindulatú megbetegedés kapcsán is felmerült és igazolást nyert, pl. bazálsejtes és pikkelysejtes, valamint intraepidermális karcinóma esetén, továbbá ígéretes lehet, mint új antileukémiás szer. A rokon szerkezetű 20-*O*-acetil-ingenol 3-angelát (PEP008) esetén az előzetes eredmények szintén biztatóak különböző szolid tumorok (emlő, vastagbél és melanoma) vizsgálatában.

Az ingenol-mebutát a kutyatejfélékre jellemző módon mérgező, irritáló anyag, de megfelelő adagolás és cél esetén mégis hatékony gyógyszerre válhatott.

### **IRODALOM**

1. Vasas A., Hohmann J.: Chem. Rev. 114(17), 8579-8612 (2014). – 2. <http://www.dev.preedi.com/peplin/manufacturing-process.php> – 3. Hohmann J., Evanics F., Berta L., Bartók T.: Planta Med. 66(3), 291-294 (2000). – 4. Vasas A., Rédei D., Csupor D., Molnár J., Hohmann J.: Diterpenes from European *Euphorbia* species serving as a new prototype for natural product-based drug discovery. Eur. J. Org. Chem. 5115-5130 (2012).

VASAS A.: *Euphorbia peplus* – ingenol mebutate

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Farmakognóziái Intézet,  
Szeged, Eötvös u. 6. - 6720

*A dolgozathoz tartozó tesztkérdések az utolsó oldalon találhatóak*

